

Indo. J. Chem. Res., 2017, 5(1), 37-46

PRODUKSI DAG DARI VIRGIN COCONUT OIL (VCO) MELALUI REAKSI TRANS-ESTERIFIKASI MENGGUNAKAN ENZIM LIPASE DEDAK PADI (*Oryza Sativa L.*) SPESIFIK C₁₈₋₂₀ TERIMOBILISASI KARBON AKTIF SEBAGAI BIOKATALIS

DAG Production of Virgin Coconut Oil (VCO) Through The Trans-Esterification Reaction Using The Enzyme Lipase From Rice Bran (*Oryza Sativa L.*) Specific C₁₈₋₂₀ Immobilized of The Activated Carbon As Catalyst

Seniwati Dali¹, Firdaus¹ Hendra J. Rusman^{1*}

¹Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Hasanuddin University
Jl. Perintis Kemerdekaan Km. 10, Tamalanrea Indah, Makassar, 90245- Indonesia

*Corresponding author, e-mail: hendrarusmanlipase@gmail.com

Received: June 2017 Published: July 2017

ABSTRACT

This research aims to produce DAG of the VCO through the substrate reaction of *trans*-esterification using lipase enzymes specifically C₁₈₋₂₀ from rice bran (*Oryza Sativa L.*) immobile of activated carbon as a catalyst. Phases of this research starts with the enzyme lipase do immobile using activated carbon; next enzymes of immobile used to produce DAG through the *trans*-esterification reaction using a VCO as a substrate and methanol as co-substrate; DAG and methyl ester produced identified using FTIR instrument and GC-MS instruments. The results showed that there were three compounds DAG and three compound methyl ester produced *trans*-esterification reaction, namely (1) 1-laurin, 3-kaproyl esters of glycerol; (2) 2-laurin, 3-kaproyl esters of glycerol; (3) 1-laurin, 3-kaproyl esters of glycerol; (4) methyl ester oleic; (5) methyl ester stearic acids; and (6) methyl ester arachidat.

Keywords: VCO, DAG, rice bran Lipase specifically C₁₈₋₂₀, *trans*-esterification

PENDAHULUAN

Virgin Coconut Oil (VCO) merupakan minyak dengan kadar asam lemak bebas yang rendah yaitu 0,0002% dan didominasi oleh asam lemak rantai sedang (C₁₀₋₁₆) seperti asam laurat, asam kaprat, asam palmitat, asam palmitoleat, asam kaprilat, dan asam kaproat dengan total persentase sekitar 88,7% sedangkan asam lemak rantai panjang (C₁₈₋₂₀) seperti asam oleat, asam stearat, asam linoleat, asam linolenat, dan asam arachidat hanya sekitar 11,3%. VCO dapat dikonversi menjadi MAG, DAG, asam lemak, metil ester asam lemak, dan gliserol (Prakosa, 2010, Mappiratu dan Irijana, 2010).

DAG merupakan salah satu hasil konversi VCO yang dapat dimetabolisme secara efisien oleh tubuh sebagai sumber energi sehingga dapat mencegah akumulasi lemak tubuh (*body fat*); Selain itu, DAG dapat

menurunkan Low Density Lipoprotein (LDL), triasilgliserol (TAG) dan inhibitor plasminogen; serta dapat dicampur dengan monoasilgliserol (MAG) yang digunakan sebagai surfaktan makanan dan anti mikroba terutama yang mengandung asam lemak rantai sedang (Dwiyuni, 2006).

DAG dapat diproduksi dari VCO dengan cara hidrolisis atau *trans*-esterifikasi menggunakan metode kimiawi maupun enzimatik. Namun produksi DAG menggunakan metode kimiawi memiliki kelemahan yaitu membutuhkan suhu dan tekanan yang tinggi (Widodo, 2009, Rahardja dkk., 2011, Lestari dkk., 2012). Dengan demikian, metode enzimatik adalah alternatif yang baik dalam memproduksi DAG. Penggunaan metode enzimatik di dalam memproduksi DAG dari VCO umumnya menggunakan lipase mikrobial spesifik 2 imobil akan tetapi, lipase mikrobial umumnya

mempunyai harga yang relatif mahal (Kurnia, 2010). Kondisi ini disebabkan proses isolasi yang relatif rumit dan waktu yang diperlukan relatif lama. Dengan demikian maka diperlukan enzim lipase selain mikrobial dan salah satu enzim lipase yang berpotensi untuk mengkatalisis VCO menjadi DAG adalah enzim lipase spesifik C_{18-20} dari dedak padi (*Oryza Sativa L.*) yang telah diimobilisasi (Dharsono dan Oktari, 2010, Wahyuningsih dkk., 2011).

Alasan penggunaan enzim ini adalah (1) VCO merupakan minyak yang umumnya tersusun dari asam lemak rantai sedang (C_{10-16}) (Prakosa, 2009, edahwati, 2011) sehingga enzim lipase dedak padi cenderung untuk mengkatalisis reaksi hidrolisis dan *trans*-esterifikasi pada asam lemak rantai panjang yang terikat pada TAG, dengan demikian maka produk yang dihasilkan dari reaksi *trans*-esterifikasi umumnya merupakan metil ester asam lemak (MEAL) dan diasilgliserol (DAG) (Arvian dkk., 2009, Khadimah dkk., 2011, Suharyanto dkk., 2011), (2) biaya yang diperlukan untuk produksi enzim relatif murah (Wahyuningsih et.al., 2011), serta (3) enzim lipase imobil umumnya menghasilkan produk dengan tingkat kemurnian yang tinggi karena memiliki spesifitas reaksi dan mudah dipisahkan dari produk (Seniwati, 2010).

METODOLOGI

Bahan

Bahan yang digunakan yaitu : Lipase dedak padi (*Oryza Sativa L.*), buffer fosfat pH 6,5; karbon aktif, VCO (*Virgin Coconut Oil*), Na_2SO_4 p.a (merck), kloroform p.a (merck), dan metanol p.a (merck).

Alat

Alat yang digunakan yaitu, alat-alat instrumen: instrumen FTIR (Shimadzu model IR Prestige-21), instrumen GC-MS (Zhimadzu model QP-2010 Plus), neraca analitik (Acculab), oven, blender, *hot plate stirrer* (Vella), *shaker incubator* (BL Barnstead/Lab-line Max Q 4000), seperangkat alat destilasi, pipet volume, corong Buchner, mikropipet, dan alat-alat gelas (pyrex) yang terdiri dari : Gelas ukur, gelas kimia, erlenmeyer, tabung reaksi, pipet volume, dan pipet tetes.

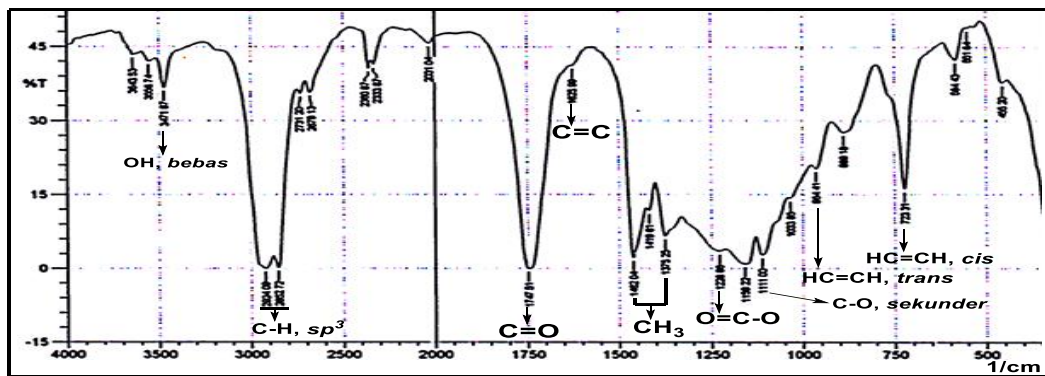
Prosedur Kerja

15 gram VCO ditambahkan dengan 7,5 mL metanol dan 7,5 gram enzim imobil kemudian diinkubasi selama 6 jam pada suhu $50^{\circ}C$; selanjutnya dilakukan ekstraksi produk menggunakan 25 mL kloroform, didinginkan, dan disaring; selanjutnya, dilakukan evaporasi pelarut pada suhu $65^{\circ}C$. fase minyak yang diperoleh dilarutkan kembali di dalam 50 mL n-heksana kemudian dicuci dengan 2 kali 25 mL aquades dan dipisahkan menggunakan corong pisah; selanjutnya dikeringkan dengan Na_2SO_4 anhidrat dan dilakukan evaporasi pelarut pada suhu $55^{\circ}C$; selanjutnya dilakukan analisis kualitatif menggunakan instrumen FTIR dan GC-MS.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi Senyawa Hasil Katalisis Menggunakan Instrumen FTIR

Identifikasi senyawa hasil katalisis menggunakan instrumen FTIR bertujuan untuk mengetahui hasil produksi DAG melalui *trans*-esterifikasi berdasarkan gugus fungsi. Pita serapan yang menunjukkan adanya senyawa hasil katalisis enzim lipase dapat dilihat pada Gambar 1.



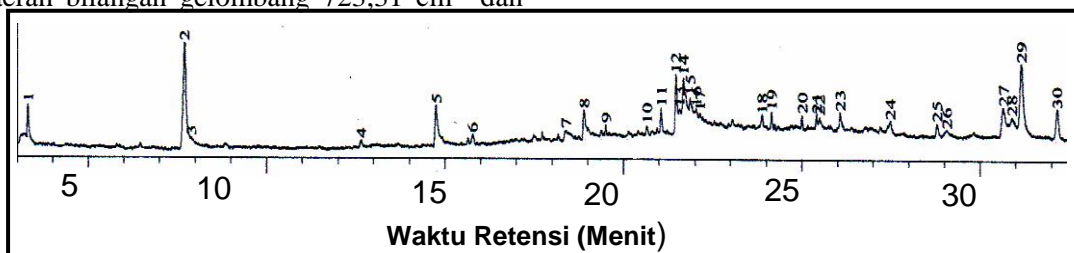
Gambar 1. Pita serapan senyawa hasil katalisis enzim lipase dedak padi (*Oryza Sativa L.*) Spesifik C_{18-20}

Berdasarkan hasil identifikasi menggunakan instrumen FTIR, senyawa hasil katalisis reaksi *trans*-esterifikasi diduga merupakan metil ester asam lemak sebagai produk utama dan asil gliserol sebagai produk samping. Senyawa metil ester asam lemak teridentifikasi daerah bilangan gelombang $1747,51\text{ cm}^{-1}$ yang merupakan pita serapan $C=O$ karbonil ester kemudian diperkuat di daerah bilangan gelombang $1228,66\text{ cm}^{-1}$ yang merupakan pita serapan $O=C-O$; serta pita serapan CH_3 yang terdapat di daerah bilangan gelombang $1375,25\text{ cm}^{-1}$ dan $1462,04\text{ cm}^{-1}$; asam lemak jenuh teridentifikasi pada daerah bilangan gelombang $2852,72\text{ cm}^{-1}$ dan $2924,09\text{ cm}^{-1}$ yang merupakan pita serapan $C-H\ sp^3$; sedangkan asam lemak tak jenuh teridentifikasi pada daerah bilangan gelombang $1625,99\text{ cm}^{-1}$ yang merupakan pita serapan $C=C$ kemudian diperkuat dengan pita serapan $HC=CH\ cis$ yang terdapat pada daerah bilangan gelombang $723,31\text{ cm}^{-1}$ dan

pita serapan $HC=CH\ trans$ yang terdapat pada daerah bilangan gelombang $964,41\text{ cm}^{-1}$; senyawa asil gliserol teridentifikasi pada pita serapan ester dan asam lemak kemudian diperkuat dengan adanya $C-O$ sekunder yang terdapat pada daerah bilangan gelombang $1111,00\text{ cm}^{-1}$; dan pita serapan OH bebas yang terdapat di daerah bilangan gelombang $3471,87\text{ cm}^{-1}$.

Identifikasi Senyawa Hasil Katalisis Menggunakan Instrumen GC-MS

Identifikasi senyawa hasil katalisis menggunakan instrumen GC-MS bertujuan untuk mengetahui senyawa produk hasil *trans*-esterifikasi berdasarkan fragmen-fragmen senyawa yang terdapat pada spektrum MS. Hasil identifikasi senyawa menggunakan instrumen GC-MS dapat dilihat pada Gambar 2.



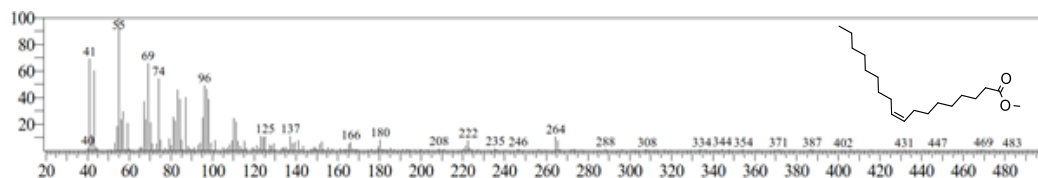
Gambar 2. Kromatogram sampel hasil katalisis menggunakan substrat Virgin Coconut Oil (VCO)

Berdasarkan hasil kromatogram GC sampel dapat diketahui bahwa terdapat 23 senyawa yang terkandung di dalam substrat VCO, akan tetapi, beberapa spektrum MS yang dihasilkan menunjukkan adanya

senyawa DAG dan metil ester asam lemak rantai panjang (C_{18-20}). Adanya senyawa tersebut diketahui berdasarkan fragmentasi yang dapat dilihat pada beberapa spektrum MS.

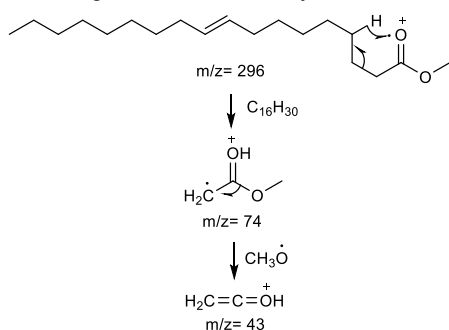
Senyawa yang terdapat pada peak 9 teridentifikasi merupakan senyawa metil ester oleat. Adanya senyawa tersebut ditandai dengan munculnya peak $m/z=74$ yang merupakan hasil fragmentasi melalui mekanisme *McLafferty* dengan melepaskan

senyawa $C_{16}H_{30}$ dan peak $m/z=264$ yang merupakan hasil pelepasan senyawa CH_3OH . Spektrum MS ini dapat dilihat pada Gambar 3, dan mekanisme fragmentasi selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 4.

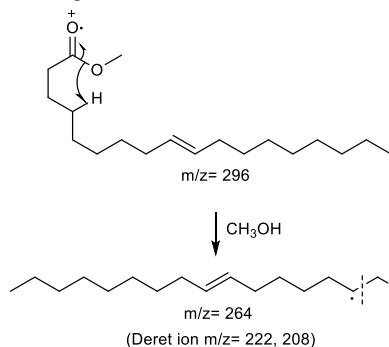


Gambar 3. Spektrum MS metil ester oleat

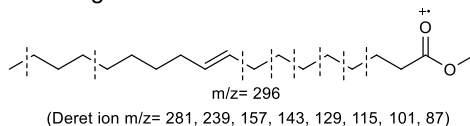
Jalur fragmentasi *McLafferty*:



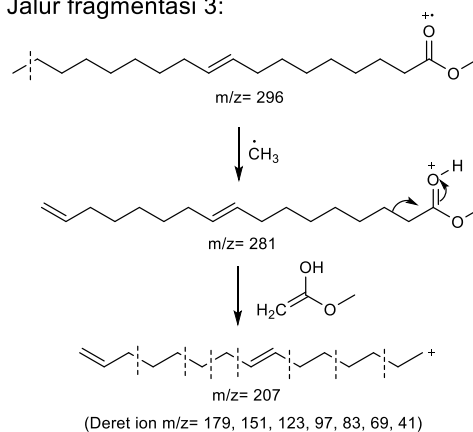
Jalur fragmentasi 1:



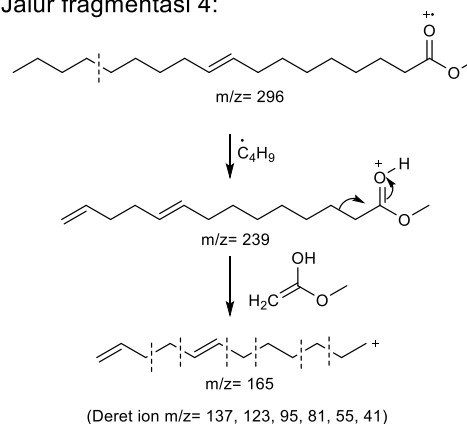
Jalur Fragmentasi 2:



Jalur fragmentasi 3:



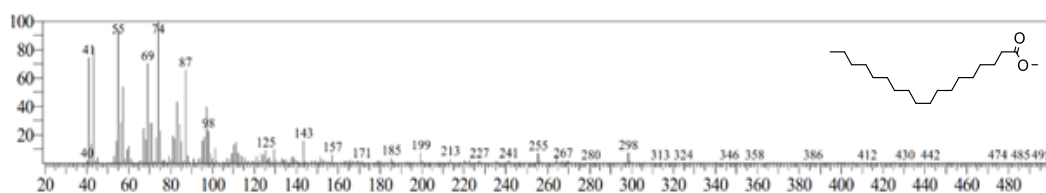
Jalur fragmentasi 4:



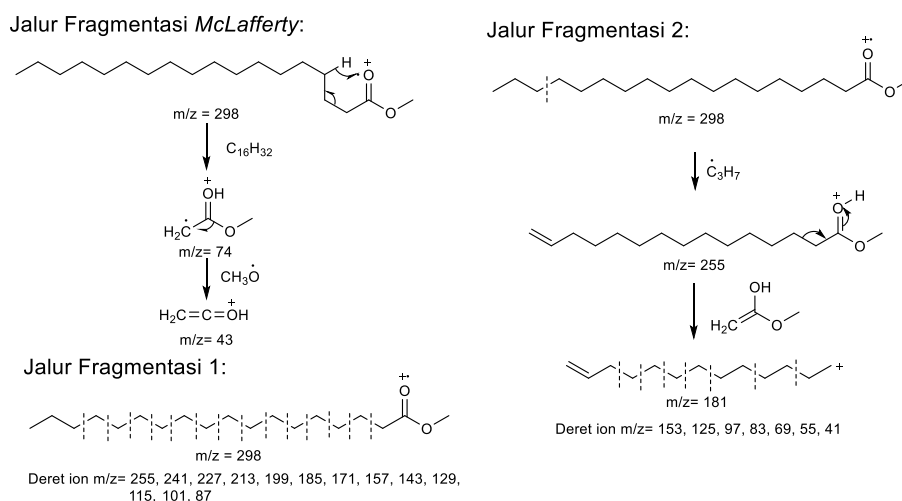
Gambar 4. Mekanisme fragmentasi metil ester oleat

Senyawa yang terdapat pada peak 10 teridentifikasi merupakan senyawa metil ester stearat. Adanya senyawa metil ester stearat sebagai hasil katalisis ditandai dengan munculnya peak $m/z=74$ yang merupakan hasil fragmentasi melalui mekanisme

McLafferty dengan melepaskan senyawa $C_{16}H_{32}$ dan peak $m/z=255$ yang merupakan hasil pelepasan senyawa C_3H_7 . Spektrum MS senyawa ini dapat dilihat pada Gambar 5 dan mekanisme fragmentasi selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 6.



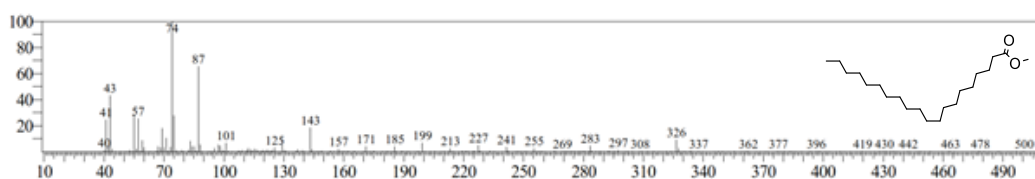
Gambar 5. Spektrum MS metil ester stearat



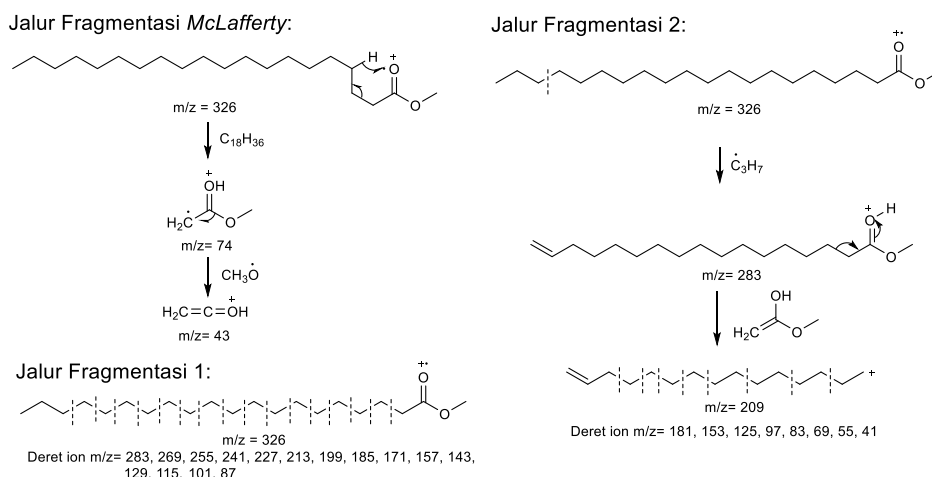
Gambar 6. Mekanisme fragmentasi metil ester stearat

Senyawa yang terdapat pada peak 15 teridentifikasi merupakan metil ester arachidat. Adanya senyawa tersebut ditandai dengan munculnya peak $m/z = 74$ yang merupakan hasil fragmentasi melalui mekanisme *McLafferty* dengan melepaskan

$C_{18}H_{36}$ dan $m/z = 283$ yang merupakan hasil pelepasan senyawa C_3H_7 . Spektrum MS senyawa ini dapat dilihat pada Gambar 7 dan mekanisme pola fragmentasi selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 8.



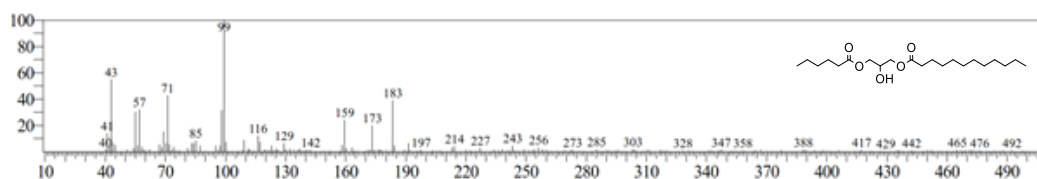
Gambar 7. Spektrum MS metil ester arachidat



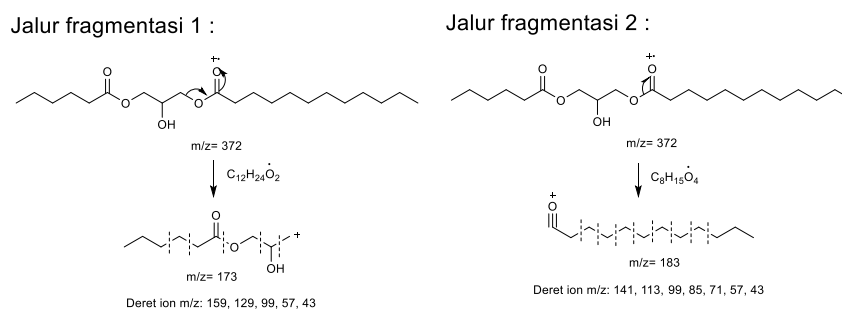
Gambar 8. Mekanisme fragmentasi metil ester arachidat

Senyawa yang terdapat pada *peak* 19 teridentifikasi sebagai 1-laurin, 3-kaproin diasilgliserol. Adanya senyawa ini ditandai dengan munculnya *peak* $m/z = 173$ yang merupakan hasil pelepasan senyawa $C_{12}H_{24}O_2$ yang dilanjutkan dengan fragmentasi hingga

mencapai $m/z = 99$ yang merupakan hasil pelepasan senyawa $C_3H_6O_2$ dan $m/z = 183$ yang merupakan hasil pelepasan senyawa $C_8H_{15}O_4$. Spektrum MS senyawa ini dapat dilihat pada Gambar 9 dan mekanisme pola fragmentasi dapat dilihat pada Gambar 10.



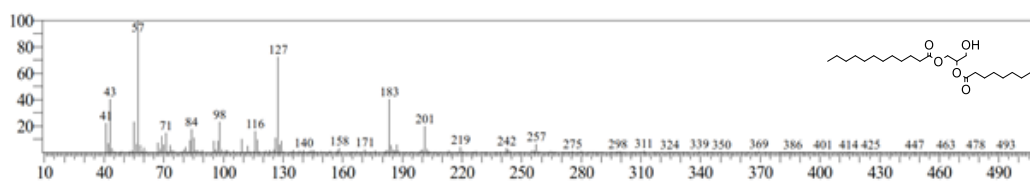
Gambar 9. Spektrum MS 1-laurin, 3-kaproin diasilgliserol



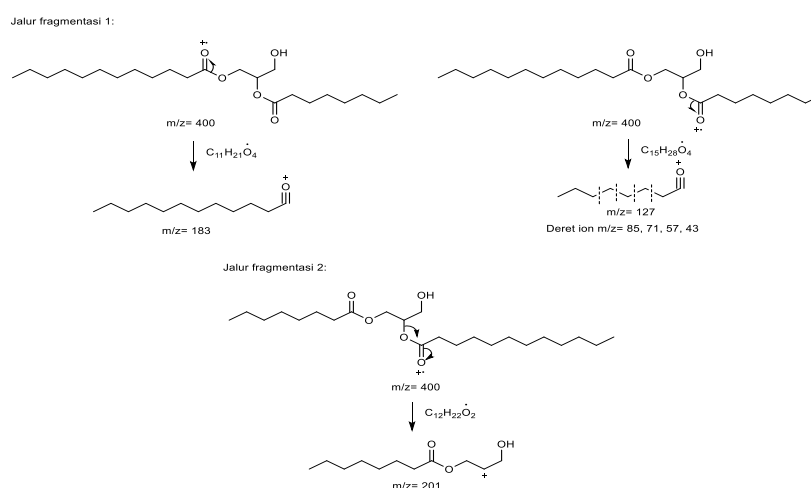
Gambar 10. Mekanisme fragmentasi 1-laurin, 3-kaproin diasilgliserol

Senyawa yang terdapat pada *peak* 21 teridentifikasi sebagai 2-laurin, 3-kaprilin diasilgliserol. Adanya senyawa ini ditandai dengan munculnya *peak* $m/z = 201$ yang merupakan hasil pelepasan senyawa $C_{12}H_{22}O_2$, $m/z = 183$ yang merupakan hasil pelepasan

senyawa $C_{11}H_{21}O_4$, dan $m/z = 127$ yang merupakan pelepasan senyawa $C_{15}H_{28}O_4$. Spektrum MS senyawa ini dapat dilihat pada Gambar 11 dan mekanisme fragmentasi selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 12.



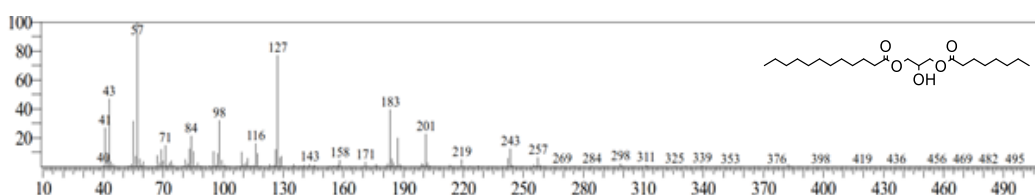
Gambar 11. Spektrum MS 2-laurin, 3-kaproin diasilgliserol



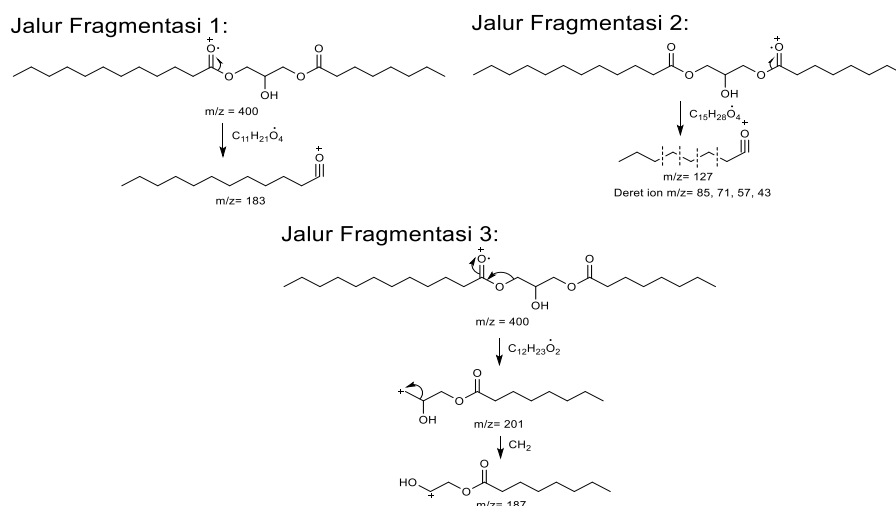
Gambar 12. Mekanisme fragmentasi 2-laurin, 3-kaproin diasilgliserol

Senyawa yang terdapat pada *peak* 22 teridentifikasi sebagai, 1-laurin, 3-kaprilin diasilgliserol. Adanya senyawa ini ditandai dengan munculnya *peak* $m/z = 201$ yang merupakan hasil pelepasan senyawa $C_{12}H_{23}O_2$ dilanjutkan dengan pelepasan CH_2 hingga memunculkan *peak* $m/z = 187$, $m/z = 183$ yang

merupakan hasil pelepasan senyawa $C_{11}H_{21}O_4$, dan $m/z = 127$ yang merupakan pelepasan senyawa $C_{15}H_{28}O_4$. Spektrum MS senyawa ini dapat dilihat pada Gambar 13 dan mekanisme fragmentasi selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 14.



Gambar 13. Spektrum MS 1-laurin, 3-kaprilin diasilgliserol



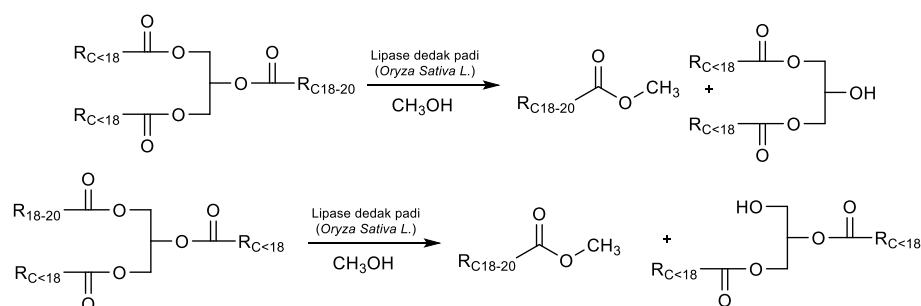
Gambar 14. Mekanisme fragmentasi 1-laurin, 3-kaprilin diasilgliserol

Tabel 1. Hasil analisis spektrum MS hasil Produksi DAG melalui reaksi *trans*-esterifikasi

No. Peak	Waktu Retensi (tR)	Area (%)	Fragmentasi (m/z)	Senyawa Hasil Identifikasi
9.	21,055	2,27	296 (M+), 281, 264, 239, 222, 208, 207, 179, 165, 157, 151, 143, 137, 129, 123, 115, 101, 97, 95, 87, 83, 81, 74, 69, 55, 43, 41	Metil ester oleat
10.	21,469	7,53	298 (M+), 255, 241, 227, 213, 188, 185, 181, 171, 157, 153, 143, 129, 125, 115, 101, 97, 87, 83, 69, 55, 43, 41	Metil ester stearat
15.	24,151	1,53	326 (M+), 283, 255, 241, 227, 213, 209, 199, 185, 181, 171, 157, 153, 143, 129, 125, 115, 101, 97, 87, 83, 74, 69, 55, 43, 41	Metil ester arachidat
19.	27,482	1,65	372 (M+), 183, 173, 159, 141, 129, 113, 99, 85, 71, 57, 43	1-laurin, 3-kaproin diasilgliserol
21.	30,650	5,30	400 (M+), 201, 183, 127, 85, 71, 57, 43	2-laurin, 3-kaprilin diasilgliserol
22.	31,157	14,80	400 (M+), 201, 187, 183, 127, 85, 71, 57, 43	1-laurin, 3-kaprilin diasilgliserol

Berdasarkan hasil identifikasi menggunakan instrumen FTIR dan GC-MS menunjukkan bahwa penggunaan enzim lipase dedak padi (*Oryza Sativa L.*) spesifik C₁₈₋₂₀ sebagai biokatalis di dalam memproduksi DAG tidak menunjukkan adanya MAG dan metil ester asam lemak rantai pendek (C₁₋₈) dan metil ester asam

lemak rantai sedang (C₁₀₋₁₆) sebagai produk campuran sehingga enzim ini sangat di dalam penggunaannya untuk mengkatalisis substrat VCO menjadi DAG. DAG hasil produksi dapat dimanfaatkan sebagai antimikroba karena didominasi oleh asam laurat. Reaksi katalitik enzim lipase tersebut dapat dilihat pada Gambar 15.



Gambar 15. Reaksi enzim lipase dedak padi (*Oryza Sativa L.*) spesifik C₁₈₋₂₀ di dalam mengkatalisis substrat VCO menjadi DAG

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil analisis menggunakan FTIR dan GC-MS dapat diketahui produksi DAG dari VCO menggunakan enzim lipase dedak padi (*Oryza Sativa L.*) spesifik C₁₈₋₂₀ sebagai biokatalis menghasilkan tiga senyawa DAG dan tiga senyawa metil ester yang dihasilkan reaksi trans-esterifikasi yaitu (1) 1-laurin, 3-heksanoin ester gliserol, (2) 2-laurin, 3-oktanoin ester gliserol, (3) 1-laurin, 3-heksanoin ester gliserol, (4) metil ester oleat, (5) metil ester stearate, dan (6) metil ester arachidat.

DAFTAR PUSTAKA

- Arvian F., Yulianto M.E., Hari S., Mulikin H., Yuariski O., 2009, Pengembangan Proses Enzimatik Untuk Produksi Biodiesel dari Minyak Biji Karet, *Simposium Nasional RAPI VIII 2009*, ISSN: 1412-9612.
- Dharsono W., Oktari Y.S., 2010, Pembuatan Biodiesel Dari Dedak Padi dan Metanol Dengan Esterifikasi In Situ, *Skripsi*, Universitas Diponegoro, Semarang.
- Dwiyuni M., 2006, Kajian Sifat Fisiko-Kimia Ekstraksi Minyak Kelapa Murni (Virgin Coconut Oil, VCO) dengan Metode Pembekuan Krim Santan, *Skripsi*, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Edahwati L., Aplikasi Penggunaan Enzim Papain dan Bromelin Terhadap Perolehan VCO, *UPN Press*, ISBN: 978-602-8915-26-6, 2011.
- Khadimah N., Argo B.D., Susilo B., 2014, Konversi Minyak Nyamplung Menjadi Biodiesel Menggunakan Enzim Lipase *Candida Rugosa*, *Proceeding Seminar Nasional, Teknologi Praktisdalam Upaya Konservasi Air dan Energi, Jurusan Teknik Lingkungan, Universitas Lambung Mangkurat*, ISBN 978-602-9092-64-6.
- Kurnia, 2010, Produksi Enzim Lipase Dari *Aspergillus Niger* Untuk Menghasilkan Monoasilgliserol, *Tesis*, Universitas Diponegoro, Semarang.
- Lestari S.P., Harjono; Supartono, 2012, Sintesis Askorbil-Laurat Melalui Reaksi Esterifikasi dengan Katalis Enzim Lipase, *Indn.J. Chem Sci. 1* (2) (2012).
- Mappiratu, Ijirana, 2010, Penelitian Pembuatan Metil Ester Asam Lemak Rantai Sedang Dan Rantai Panjang Serta Pemurnian Gliserol dari Minyak Kelapa Murni, *Jurnal Penelitian Hasil Hutan Vol. 28 No. 4, Desember 2010: 415-426*.
- Prakosa A.H., 2009, *Pembuatan Minyak Kelapa Murni (Virgin Coconut Oil) Menggunakan Fermentasi Ragi Tempe*, *Skripsi*, Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Seniwati, 2010, Studi Enzim Lipase Dari *Aspergillus Oryzae* Pada Kopra Berjamur dan Pemanfaatannya Dalam Menghidrolisis Minyak Kelapa Menjadi DAG, *Disertasi*, Universitas Hassanudin, Makassar.
- Suharyanto, Panji-T, Perwitasari U., Optimasi Produksi Diasilgliserol dari

Crude Palm Oil Menggunakan Lipase Spesifik 1-3 Gliserida dari *Rhizopus Oryzae* TP-2, *Balai Penelitian Bioteknologi. Perkebunan, Menara Perkebunan 2011*, 79(1), 23-29.

Wahyuningsih; Pudjiastuti I; Kusumianti H, 2011, Asidolisis Enzimatik Minyak Ikan Tuna (*Thunnus Thynnus*) Menjadi Produk Asam Lemak Kaya Omega-3

Dengan Pemanfaatan Lipase Getah Pepaya (*Carica Papaya Latex*), *Hasil Penelitian TTG Hibah Bersaing Melalui SK Dekan No 304/SK/UN7.3.3/IV/2011, DIPA Fakultas Teknik, Universitas Diponegoro, Semarang.*